

РАСПРОСТРАНЕНИЕ СЕРОТИПОВ
BACILLUS THURINGIENSIS В АРМЕНИИ

К. О. ЧИЛНГАРЯН

Изучалось распространение культур *Bac. thuringiensis* в микрофлоре более 400 образцов насекомых—вредителей из разных районов Армении. Выделено и идентифицировано 100 штаммов указанного вида. Установлено, что в Армении чаще всего встречаются культуры серотипов 4,5 и 10 этого вида бактерий. Выявлены определенные ареалы распространения культур этих серотипов.

Ключевые слова: бактерии, экология.

Вопросы экологии культур разных серотипов *Bac. thuringiensis* являются основой направленных поисков новых перспективных штаммов для производства инсектицидных препаратов.

Исследованиями ряда авторов установлено, что существует приуроченность культур разных серотипов к различным географическим зонам [1, 2, 8—10, 12]. Так, в Сибири чаще выделяются культуры серотипов 4 и 5 [5], а на Кавказе—3,5 и 10 [1].

В настоящей работе сделана попытка охарактеризовать распространение культур *Bac. thuringiensis* в микрофлоре различных видов насекомых из разных районов Армении.

Материал и методика. Объектами исследований служили насекомые, погибшие на разных стадиях развития (личинки, куколки, стадии имаго), собранные в различных районах Армении, где не применялись бактериальные инсектицидные препараты.

Всего было обследовано свыше 400 образцов 20-ти различных видов насекомых, причем впервые в Армении обследовались насекомые следующих видов: колорадский жук, слепни, луговой мотылек, различные виды блох и комаров. Микробиологический анализ проводился рассевом суспензии образцов насекомых на поверхность мясо-пептонного агара (МПА) в чашках Петри. Рост бактерий учитывался на 2—3 сут инкубации при 30°. Помимо учета общего содержания бактерий и других групп микроорганизмов, проводился анализ качественного состава бактерий микрокопированием колоний. Культуры *Bac. thuringiensis* выделялись, подвергались очистке.

Каждая выделяемая культура очищалась повторными высевами пастеризованной суспензии на МПА или же пептонном агаре (ПА) с добавлением 1% дрожжевого автолизата.

Культуральные особенности бактерий описывались на средах МПА и ПА через 3—5 сут после посева по общепринятой схеме [6].

Морфология клеток в цикле развития культур изучалась в живых препаратах в микроскопе МБИ-3 с фазовым контрастом. Определялись размеры клеток и спор. Для выявления параспоральных включений мазки окрашивались карболовым фуксином Циля. Окрашиваемость изучалась по Граму в модификации Синева [7].

Образование ацетилмети-лкарбинила проверялось на среде Кларка, способность давать лецитино-вителлиновую реакцию и параллельно пигментообразование изучалось по Беттхеру [3]. Остальные физиолого-биохимические свойства определялись на средах и по методам, предложенным подкомитетом бакилл Международного комитета по систематике бактерий.

Серологическая дифференциация культур *Bac. thuringiensis* проводилась иммунными антисыворотками к жгутиковым антигенам по методу Де Баржак и Бонифуа [11].

Результаты и обсуждение. При выделении культур из всех обследованных образцов только в 12-ти не удалось обнаружить спорообразующих бактерий, и микрофлора этих насекомых была представлена грибами и культурами группы кишечной палочки. Из остальных образцов нами выделено около 350 штаммов спорообразующих бактерий, в том числе 100 штаммов интересующей нас группы энтомопатогенных культур *Bac. thuringiensis*.

В результате комплекса проведенных исследований все культуры отнесены к четырем группам: серотипы 4,5 и 10 и в одну группу из 30 штаммов, не серотипируемых ни одной из известных сывороток к 14 серотипам данного вида бактерий. Эти штаммы изучаются с целью описания их в качестве новых серотипов.

В табл. 1 представлено распространение культур *Bac. thuringiensis* в микрофлоре различных видов насекомых. Как видно из приведенных данных, чаще всего культуры этого вида выделялись из микро-

Таблица 1
Распространение культур *Bacillus thuringiensis* в микрофлоре насекомых

Насекомое	Количество образцов	Выделено культур	
		всего	<i>Bac. thuringiensis</i>
<i>Agrotis segetum</i> Schiff.	21	55	14
<i>Agrotis ypsilon</i> Rott.	4	24	6
<i>Barathra brassicae</i> L.	3	10	1
<i>Bombyx mori</i> L.	3	8	2
<i>Diprion pini</i> L.	3	1	1
<i>Hyponomeuta podellus</i> L.	2	3	3
<i>Hyponomeuta malinellus</i> Zell.	15	29	15
<i>Carpocapsa pomonella</i> L.	2	6	1
<i>Galleriae mellonella</i> L.	5	6	6
<i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say.	10	12	8
<i>Tabanus spectabeles</i> L.	2	6	2
<i>Polychrosis batrana</i> Schiff.	4	6	4
<i>Ceratophyllus tesquorum</i> Wagn.	3	6	4
<i>Neosylla setosa</i> Wagn.	1	1	1
<i>Aradus cinnamomeus</i>	10	22	20

флоры таких насекомых, как плодовая моль (*Hyponomeuta podellus* L.), яблонная (*Hyponomeuta malinellus* Zell.), большая восковая моль (*Galleriae mellonella* L.), тутовый шелкопряд (*Bombyx mori* L.), гроздевая листовертка (*Polychrosis batrana* Schiff.) и реже — из яблонной плодовой жорки (*Carpocapsa pomonella* L.), кольчатого шелкопряда (*Malacosoma neustria* L.), капустной (*Barathra brassicae* L.) и озимой совок

(*Agrotis segetum* Schiff). Особенно интересно отметить, что выделяют культуры *Bac. thuringiensis* из паразитированных гусениц и паразитов яблонной моли, а также из колорадского жука (*Leptodermus* *poponella* L.).

В табл. 2—4 представлены данные по физиолого-биохимической характеристике выделенных культур. В табл. 2, 3 не включены такие признаки, как образование ацетил-метил-карбинола (АМК), лецитина-

Таблица 2
Характеристика физиолого-биохимических свойств культур серотипа *caucasicus*

Культуры бактерий (рабочие №№)	Образование кислоты из				Образование		Рост культуры	
	сахарозы	салицина	маннозы	целлобиозы	пигмента	дигидро-ксиацетона	при pH 5,7	в 7% NaCl
6	+	+	—	+	++	+	—	+
12—11	—	—	—	—	—	—	—	—
35, 38	—	+	—	—	+	+	+	+
39	—	+	—	—	+	+	+	+
41	—	—	—	—	+	+	+	+
43	+	—	—	—	+	—	+	—
45	—	+	—	—	+	—	+	—
49	—	—	—	—	+	—	+	—
50, 51, 59	—	—	—	—	+	+	+	+
55	+	+	—	+	+	+	+	—
58, 74	—	—	—	—	+	+	+	—
70	—	—	—	—	+	—	+	—
78	—	—	—	+	—	—	+	+

Примечание: здесь и в последующих таблицах знаком (+) отмечена положительная, (—) — отрицательная реакция.

Таблица 3
Характеристика физиолого-биохимических особенностей культур серотипа *galleriae*

Культуры бактерий (рабочие №№)	Образование кислоты из				Образование		Дезаминирование фенилаланина	Рост культур	
	сахарозы	салицина	маннозы	целлобиозы	уреазы	дигидро-ксиацетона		при pH 5,7	в 7% NaCl
30, 36	—	+	—	+	+	+	+	+	+
65	+	—	—	+	+	—	—	+	+
66	—	+	—	+	—	++	+	—	+
71, 72	—	++	—	+	—	—	—	+	+
73, 76	—	++	—	+	—	—	—	+	+
75	—	+	—	+	—	—	—	+	+
77	—	+	—	+	—	+	—	—	+
92	—	—	—	+	—	+	—	—	+
147	—	—	—	+	—	—	+++	—	+
148	—	—	—	+	—	—	+++	—	+
149	—	—	—	+	+	+	—	+	+
150	—	—	—	+	—	—	+	—	+
151	—	—	—	+	+	—	—	+	+
155, 157	+	—	—	+	+	+	—	—	+

Характеристика физиолого-биохимических свойств новых культур серотипа *sotto-dendrolimus*

Культуры бактерий (рабочие №№)	АМК	Образование кислоты из				Образование дигидроксоацетона	Денитрификация	Рост культуры	
		сахарозы	салицина	маннозы	целлобиозы			при pH 5,7	в 7% NaCl
1	—	—	—	—	+	—	+	+	—
2A	—	—	—	—	+	+	+	+	+
2B	+	—	—	—	+	+	+	+	+
1-3	+	+	—	—	—	—	—	+	+
K-1	+	+	—	—	—	+	—	+	+
2	—	+	—	—	—	+	—	+	+
62	+	+	—	—	+	+	—	+	+
9A	+	+	—	—	+	+	—	+	+

зы (ЛВР), гидролиз крахмала, протеолиз, сбраживание эскулина, денитрификация, так как эти свойства выявлены у всех обследованных культур, что соответствует ключу для дифференциации культур *Bac. thuringiensis*.

Особое внимание при дифференциации культур *Bac. thuringiensis* привлекает их способность образовывать кислоту при усвоении таких углеводов, как сахароза, салицин, манноза и целлобиоза. Как следует из таблиц, наиболее показательное усвоение таких сахаров, как манноза и целлобиоза.

При попытке проанализировать распространение культур *Bac. thuringiensis* в разных районах выяснилось, что наряду с районами, в которых микрофлора погибших насекомых представлена культурами серотипов 5 и 10, существуют также районы-«очаги» выделения культур отдельных серотипов. Так, например, из насекомых, собранных в Эчмиадзинском и Сисианском районах, выделялись культуры как 5-го, так и 10-го серотипа, с той лишь разницей, что в Эчмиадзинском районе чаще выделялись культуры серотипа 10, а в Сисианском—серотипа 5. Культуры только 5-го серотипа выделялись из микрофлоры насекомых Арташатского и Шамшадинского районов, серотипа 10—в Ноемберянском и Гугаркском районах, серотипа 4—в Горисском.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 23.X 1979 г.

ՀԱՅԱՍՏԱՆՈՒՄ BACILLUS THURINGIENSIS ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՍԵՐՈՏԻՊԵՐԻ ՏԱՐԱԾՈՒՄԸ

Կ. Հ. ՉԻԼԻՆԳՐՅԱՆ

Հայաստանի տարբեր շրջաններից հավաքած 400-ից ավելի վնասատու միջատների միկրոֆլորայում ուսումնասիրվել է *Bac. thuringiensis* տեսակի կուլտուրաների տարածումը:

Մեկուսացվել և տեսակավորվել է նշված տեսակի 100 կուլտուրա: Հաստատվել է, որ Հայաստանում ամենահաճախ հանդիպում են վերոնշյալ տեսակի 4, 5 և 10 սերոտիպերի կուլտուրաները:

DISTRIBUTION OF BACILLUS THURINGIENSIS SEROTYPES IN ARMENIA

K. H. CHILINHARIAN

Distribution of *Bacillus thuringiensis* cultures in more than 400 samples of pests from different regions of Armenia has been studied. 100 strains of this species has been isolated and identified. Representatives of serotypes 4,5 and 10 of *Bacillus thuringiensis* are mostly distributed in investigated insects.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкян Э. К. Энтомопатогенные бактерии и их значение, Ереван, 1973.
2. Баранова В. П. Автореф. канд. дисс., Л., 1972.
3. Беттхер К. Микробиология, 30, 4, 1961.
4. Гафурова В. Л. Изв. АН Тадж. ССР, (отд. биол. наук), 4, 41, 105, 1970.
5. Гриценко И. Н., Соколова М. Я., Черепанова Н. Е., Юдина Е. В. В кн.: Генетика и селекция микроорганизмов, Новосибирск, 25, 106—109, 1975.
6. Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований, М., 1978.
7. Лебедева М. Н. Руководство к практическим занятиям по микробиологии, М., 1950.
8. Ходырев В. П. Автореф. канд. дисс., Алма-Ата, 1975.
9. Akiba Y., Sekijima Y., Aizawa K., Fujiyoshi N. Japan J. Appl. Entomol. a. Zool. 21, 1, 41—46, 1977.
10. Burges H. D., Hurst J. A. J. Invertebr. Pathol., 32, 2, 131—139, 1977.
11. De Barjac H., Bonnefoi A. Entomophaga, 7, 1, 1962.
12. Sekijima Y., Akiba Y., Ono K., Aizawa K., Fudiyoshi N. Japan J. Appl. Entomol. a. Zool., 21, 1, 35—40, 1977.